

بررسی اثر نانوذرات نقره و اکسید روی بر نماتد مولد سیست چغندر قند (*Heterodea schachtii*) در شرایط گلخانه

علی اکبر فدایی تهرانی^{۱*} و زبیده فتحی^۲

۱- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.

* مسئول مکاتبات: ma_fadaei@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۶

چکیده

نماتد مولد سیست، یکی از بیمارگرهای مهم چغندر قند می‌باشد که مطالعات زیادی جهت کنترل موثر آن صورت گرفته است. اکثر روش‌های کنترل نماتد سیست با مشکلات فراوانی همراه می‌باشد. در سال‌های اخیر با گسترش موارد استفاده از نانوذرات در جنبه‌های مختلف زندگی انسان، استفاده از نانوتکنولوژی در کشاورزی و به‌ویژه در گیاه‌پزشکی مورد توجه قرار گرفته است. با این حال بررسی دقیقی درباره اثر نانوذرات عناصری همچون روی و نقره بر نماتد مولد سیست انجام نشده است. لذا جهت بررسی امکان کنترل این نماتد، اثر نانوذرات روی و نقره بر مراحل مختلف زندگی نماتد سیست چغندر- قند (*H. schachtii*) در شرایط آزمایشگاهی و اثر مواد مذکور بر بیماری‌زایی و خسارت نماتد در شرایط گلخانه انجام پذیرفت. در آزمایشگاه اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات روی تخم و لارو، و در گلخانه اثر اضافه کردن غلظت‌های مذکور به خاک بعد از مایه‌زنی گیاهان با نماتد بررسی شد. نتایج حاصل از آزمون‌های آزمایشگاهی نشان‌دهنده افزایش مرگ و میر لاروها و ممانعت از تفریح تخم در اثر استفاده از نانو ذرات نقره و اکسید روی بود. مقایسه میانگین نانوذرات مورد استفاده نیز بیانگر تأثیر بیشتر نانو ذره نقره بر مرگ و میر لارو و بازداری از تفریح تخم نماتد بود. نتایج حاصل از بررسی تأثیر نانو ذرات بر بیماری‌زایی نماتد سیست چغندر قند در شرایط گلخانه مؤید تأثیر نانو ذرات در کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتد سیست چغندر بود. براساس نتایج بدست آمده، نانو ذره نقره با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مخلوط با خاک در کنترل نماتد مؤثرتر از تیمارهای دیگر بود. با توجه به نتایج آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، احتمالاً بخش عمده‌ی کنترل نماتد سیست چغندر قند در تیمار مذکور، ناشی از اثر مستقیم سمیت نانوذرات بر نماتد بوده است.

واژه‌های کلیدی: روی، نقره، نانوذره، نماتد سیست چغندر قند.

مقدمه

به خسارت گونه‌های متعدد نماتدها و کاهش حدود ۱۰ درصدی عملکرد محصول چغندر قند اشاره شده است ولی در اکثر موارد نماتد مولد سیست، مسئول کاهش بیش از ۹۰ درصدی این مقدار ذکر شده است (Whitney and Duffus, 1986). به دلیل اهمیت اقتصادی زیاد نماتد مولد سیست، مطالعات زیادی جهت کنترل موثر آن صورت گرفته است. مقایسه‌ی اثر سموم شیمیایی مختلف، بررسی کنترل زیستی نماتد (Kucharska et al. 2011)، مهادی‌خانی مقدم و همکاران (۱۳۸۸) و تغییر عملیات زراعی (داماد زاده

چغندر قند یکی از گیاهان مهم صنعتی است که علاوه بر تولید قند و شکر، از نظر تولید فراورده‌های جانبی همچون ملاس و تفاله، نقش مهمی در صنعت و تهیه‌ی غذای دام و طیور دارد (مهادی‌خانی مقدم و جعفرپور ۱۳۷۵). زراعت چغندر قند نیز مانند سایر محصولات زراعی همه ساله در معرض آفات و بیماری‌های مختلف می‌باشد. ویروس‌ها، قارچ‌ها، باکتری‌ها و نماتدها از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زایی این محصول محسوب می‌شوند. هر چند در منابع مختلف

را رها کنند و یون‌های آزاد شده قادر به از بین بردن ساختار سلولی میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (Lubick, 2008). از این رو نانوقره جهت کنترل باکتری‌ها بکار رفته است. محققان نشان دادند که یون‌های نقره از طریق تولید اکسیژن فعال بر فسفولیپ‌ها اثر گذاشته و با پراکسیداسیون آنها، غشا سلولی میکروارگانیسم‌ها را تخریب می‌کنند. علاوه بر این یون نقره با جایگزین سولفور شدن در گروه‌های SH- غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها می‌تواند آن‌ها را تخریب کند (Dibrov et al., 2002). فیضی و همکاران (۱۳۸۹) مشاهده کردند که کاربرد نانوذرات نقره می‌تواند باعث افزایش عملکرد کمی چغندر قند گردد. لذا می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشند. صالحی و تمسکنی (۱۳۸۷) نشان دادند که تیمار نانوذرات نقره (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش درصد جوانه زنی، طول ساقچه و ریشه‌چه و در نهایت بهبود استقرار گندم می‌شود. Lopez et al. (2010) با مقایسه‌ی اثر نانواکسید روی و سولفات روی بر بادام زمینی، شکل نانوی ترکیب را در ارتقای جوانه‌زنی بذر، استقرار سریع‌تر و رشد بیشتر ساقه و ریشه مؤثرتر گزارش کردند. بررسی اثرات نانوذرات اکسید روی و نقره روی مراحل مختلف زندگی نماتد مولد سیست چغندر قند و امکان استفاده آنها برای کنترل نماتد از اهداف این تحقیق بودند.

مواد و روش‌ها

تکثیر و تعیین گونه‌ی نماتد

به منظور تهیه‌ی مایه‌ی تلقیح نماتد سیست چغندر قند جهت انجام تحقیق، نمونه‌های خاک و ریشه‌های آلوده به نماتد سیست از مزارع آلوده جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. استخراج سیست‌ها از خاک به روش فن‌ویک (Fenwick, 1940) انجام شد به این ترتیب که مقدار ۵۰۰ گرم از خاک هر نمونه (که در هوای معمولی خشک شده بود) به مدت ۱۰ دقیقه در معرض عبور جریان آب متصل به دستگاه فن‌ویک قرار گرفت و سیست‌های شناور در آب روی الک ۶۰ مش (۲۵۰ میکرون) جمع‌آوری و به بشر منتقل شدند. برای جدا کردن سیست‌ها از ذرات گیاهی و

و احمدی (۱۳۸۵) از جمله تحقیقات انجام شده در این زمینه است. طیف وسیع میزبانی، کنترل این نماتدها با استفاده از ارقام مقاوم و یا از طریق تناوب زراعی را با مشکل مواجه ساخته است (حیدری و همکاران ۲۰۰۶). هر چند در کشاورزی مدرن، مبارزه‌ی شیمیایی به عنوان یکی از اصلی‌ترین روش‌های مبارزه مطرح است و استفاده از بعضی ترکیبات شیمیایی همچون کاربامات‌ها و ارگانوفسفات‌ها در کنترل نماتدها در بسیاری از گیاهان موثر بوده است ولی به علت سمیت فوق العاده آن‌ها، استفاده از این ترکیبات در سال‌های اخیر منجر به آلودگی محیط زیست و به خصوص آب‌های زیر زمینی شده است. علاوه بر این، کاربرد گسترده‌ی این مواد ممکن است کارایی آن‌ها را در آینده‌ی نزدیک کاهش دهد. به همین دلیل استفاده از بسیاری از ترکیبات فوق محدود یا ممنوع شده است (Minton et al., 1985). گسترش و طغیان آفات، بازنگری در کنترل شیمیایی برای کاهش میزان مصرف آفت‌کش‌ها و تشخیص و به کارگیری روش‌های جدید را ضروری می‌سازد (Bhattacharyya et al., 2010). کشف و توسعه فرآورده‌های گیاهی نماتدکش یا بازدارنده از نماتدها از روش‌های جدیدی است که اخیراً افزایش قابل توجهی یافته‌اند (Bhattacharyya ; Minton et al., 1985; et al., 2010). تحولات نانو فناوری، با افزایش میزان سوددهی و کاهش عوارض سموم کشاورزی، معضلات ناشی از سموم شیمیایی را تا حد زیادی رفع می‌کند و آن‌ها را به محصولاتی مطمئن‌تر و مفیدتر تبدیل می‌کند. اکسیدهای فلزی نانوذرات، هم در صنعت و هم در موارد خانگی کاربرد وسیعی دارند (Chow, 2005). نانو تکنولوژی یکی دیگر از فناوری‌های نوین است که اخیراً وارد عرصه‌ی کشاورزی شده است. نانوذرات مجموعه‌های اتمی یا ملکولی با حداقل ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی در مقایسه با توده مواد خود دارند (Ruffini et al., 2010). مکانیسم عمل ذرات نانو نقره در میکروارگانیسم‌ها هنوز به روشنی مشخص نشده است ولی فرض پیشنهادی این است که ذرات نانو نقره می‌توانند به آهستگی یون‌های نقره

نقره با قطر ۲۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانو ایرانیان مشهد تهیه شد.

مطالعات آزمایشگاهی

اثر مستقیم نانوذرات اکسید روی و نقره روی تخم و لارو نماتد سیست چغندر قند درون تشتک‌های پتری و با استفاده از دو غلظت ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر هر یک از دو نانوذره و آب مقطر بعنوان غلظت صفر، بصورت جداگانه انجام شد. بدین ترتیب که در هر آزمایش، ۱۰۰ عدد تخم و یا ۱۰۰ عدد لارو نماتد سیست چغندر به تشتک‌های حاوی نانو ذرات اضافه و در شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و بدون نور) نگهداری شدند. وضعیت تخم‌های تفریح نشده و درصد مرگ و میر لاروها در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ثبت گردید. آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و در چهار تکرار انجام شدند.

بررسی‌های گلخانه‌ای

بذر چغندر قند رقم کاسپیل در شرایط گلخانه در دمای 25 ± 5 درجه‌ی سانتی‌گراد، دوره‌ی روشنایی ۱۴ ساعت و رطوبت نسبی حدود ۷۰٪ درون سینی‌های نشاء کشت گردید. پس از انتقال و استقرار نشاء‌های چغندر قند به گلدان‌های ۲۰۰ گرمی، غلظت‌های مختلف (صفر، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نانوذرات به خاک گلدان‌ها اضافه گردید و پس از گذشت ده روز، سوسپانسیونی از مخلوط لارو سن دو و تخم نماتد سیستی چغندر قند تهیه و هر گلدان با ۱۰۰۰ عدد از مخلوط مذکور تلقیح شد. عمل تلقیح با ایجاد حفره در پای طوقه‌ی گیاه و تزریق سوسپانسیون در پای ریشه صورت گرفت. پس از گذشت ده روز، نشاء‌ها به همراه محتویات خاک اطراف آن‌ها به گلدان‌های سه کیلویی انتقال یافتند. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط رطوبتی مناسب (حدود ۷۰٪) و دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و با دور مناسب (پنج روز) آبیاری شدند. آزمایش با دو نانوذره (اکسید روی و نقره)، سه غلظت (صفر، ۱۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و دو سطح

استفاده در مطالعات بعدی از کاغذ خشک‌کن استفاده شد. بدین صورت که نوار کاغذ از کناره‌ها وارد تشک پتری حاوی مخلوط گردید و پس از خارج کردن نوار مذکور، در زیر میکروسکوپ تشریح سیست‌ها جدا گردیدند. در هر گلدان حاوی ۵۰۰ گرم خاک سترون چهار بذر کشت گردید که بعد از سبز شدن به جز یکی از آنها، بقیه حذف شدند. نشای دو هفته‌ای چغندر قند توسط یک سیست مایه زنی شد و به مدت ۷۰ روز در گلخانه با دمای $25 \pm 5^\circ C$ و با دوره ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. سپس ریشه‌ها از خاک خارج و پس از مشاهده سیست‌های تشکیل شده، خاک گلدان با مقداری خاک سترون مخلوط گردید و در چند گلدان کاشته شد. این عمل سه بار تکرار شد تا جمعیت همگن و کافی از نماتد جهت آزمایش فراهم گردد. جهت تفریح تخم و خروج لاروها از سیست، از محلول ۰/۵ گرم در لیتر کلرید روی ($ZnCl_2$) استفاده شد (Grundler et al., 1997). بدین منظور سیست‌های استخراج شده به الک‌های ۲۰ مش که با پارچه‌ی تنظیف پوشانده شده بودند، منتقل گردیدند. الک‌های مذکور به نحوی درون ظروف پلاستیکی حاوی محلول ۰/۵ گرم در لیتر کلرید روی قرار داده شدند که سیست‌ها در تماس با محلول کلرید روی قرار گرفتند. نمونه‌ها تا زمان تفریح تخم‌ها، در تاریکی و شرایط دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند.

برای شناسایی گونه‌ی نماتد جدا شده از نمونه‌های خاک و ریشه، از خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی سیست‌ها و لاروهای سن دوم نماتد استفاده شد. پس از تثبیت و تهیه‌ی اسلایدهای دائمی، خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی سیست‌ها و لاروهای سن دوم بررسی و اندازه‌گیری شد. همچنین جهت بررسی مخروط جنسی انتهای بدن نماتد ماده، از ناحیه‌ی مذکور تعدادی برش عرضی تهیه گردید.

تهیه‌ی نانو ذرات

برای بررسی اثر نانوذرات فلز بر نماتد سیست چغندر قند دو نانوذره‌ی مختلف در نظر گرفته شد که نانو ذره‌ی اکسید روی با قطر بین ۳۰-۱۰ نانومتر و نانو ذره‌ی

از آنها بود، به طوری که در ۲۴ ساعت اول بیشترین اثر بر تفریح تخم نماتد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره‌ی اکسید روی مشاهده شد. با این حال میزان تاثیر غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره‌ی نقره بیشتر از غلظت مشابه نانو ذره‌ی اکسید روی بود. این روند در هر سه زمان مواجهه تخم با نانوذره مشاهده گردید به عبارت دیگر اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف هر دو نانوذره تا ۷۲ ساعت (مدت بررسی) ادامه یافت. کمترین میزان بازدارندگی از تفریح تخم در پایان مدت مطالعه، بعد از شاهد در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره‌ی اکسید روی (۳۳ درصد تخم تفریح نشده) مشاهده شد، در حالی که بیشترین میزان بازدارندگی مربوط به ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نقره (۴۲/۸ درصد تخم تفریح نشده) بود. نتایج فوق با یافته‌های محققین در مورد نماتد ریشه‌گرهی تطابق نشان داد (Cromwell et al. 2014). ساز و کار اثر نانوذرات به خوبی شناخته نشده است. آزادسازی یون‌های فلزی و گونه‌های فعال اکسیژن و یا تنش اکسیداتیو و اثر بر بیان ژن *cyp35a2* که در باروری مناسب و طول عمر نماتد دخالت دارد، از جمله ساز و کارهای ذکر شده می‌باشد (Scharf et al., 2013).

جمعیت اولیه‌ی نماتد (صفر و ۱۰۰۰ نماتد) انجام شد. ارزیابی نتایج با استفاده از شاخص‌های رشدی گیاه (طول، وزن تر و وزن خشک اندام‌های هوایی، و طول، وزن تر و وزن خشک ریشه) و خصوصیات رشد و نمو نماتد (تعداد سیست، تعداد لارو سن دو در ۱۰۰ گرم خاک، تعداد سیست روی ریشه و تعداد تخم در هر سیست) چهار ماه بعد از شروع آزمایش صورت گرفت. داده‌های بدست آمده از بررسی‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای با استفاده از نرم افزار آماری SAS و MSTATC تجزیه و تحلیل گردیدند. برای مقایسات میانگین از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی

اثر نانوذره‌ی نقره و اکسید روی بر تفریح تخم نماتد

سیست چغندر قند *H. shachtii*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان تفریح تخم نماتد سیست چغندر قند (جدول ۱) ناشی از کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و نقره، نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار بودن اثر آنها بود. مقایسه میانگین درصد تفریح تخم (جدول ۲) تیمارهای مختلف نیز بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P= ۰/۰۵$) بین نانوذرات مختلف و غلظت‌های مورد بررسی هر نانو ذره نسبت به شاهد (غلظت صفر) هر یک

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد تخم‌های تفریح نشده نماتد سیست چغندر قند تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانو ذره‌ی نقره و اکسید روی در زمان‌های مختلف پس از تیمار.

Table 1. Analysis variance of non-hatched eggs percentage of sugar beet cyst nematode treated with different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles at different times after treatment.

Source of variation (منبع تغییرات)	DF (درجه آزادی)	Mean squares (میانگین مربعات)		
		Percentage of non-hatched eggs in different times of exposure (درصد تخم‌های تفریح نشده در زمان‌های مختلف مواجهه)		
		24 (h)	48 (h)	72 (h)
Nanoparticle (نانوذره)	1	30.4**	315.4**	273.4**
Concentration (غلظت)	2	357.9**	642.8**	842.5**
Nanoparticle× Concentration (نانوذره× غلظت)	2	27.4 ^{ns}	127.2**	92.4**
Error (خطا)	18	10.1	3.5	6
CV (ضریب تغییرات)		7.1	6.7	7.3

n.s: nonsignificant ; ***,*: significant in 0.05 and 0.01 probability, respectively.

ns: غیر معنی‌دار؛ ***,* به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪

جدول ۲ - مقایسه میانگین درصد تخم‌های تفریخ نشده سیست چغندر قند در غلظت‌های مختلف نانو ذره‌ی نقره و اکسید روی در زمان‌های مختلف پس از انجام تیمار.

Table 2. Means comparison of non-hatched eggs percentage of sugar beet cyst nematode in different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles at different times after treatment

Nanoparticle (نانوذره)	Concentration (mg/l) (غلظت)	Percentage of non-hatched eggs in different times of exposure (درصد تخم‌های تفریخ نشده در زمان‌های بعد از مواجهه)		
		24 (h)	48 (h)	72 (h)
Silver (نقره)	0	35.8 ^e	32 ^e	25 ^e
	10	47 ^c	44.3 ^c	36.5 ^e
	100	50.5 ^b	45.8 ^b	42.8 ^a
Zinc Oxide (اکسید روی)	0	32.8 ^f	32.5 ^e	25 ^e
	10	43 ^d	40 ^d	33 ^d
	100	52.5 ^c	49.8 ^a	42 ^b

Means within a column followed by the same letters are not significantly different using LSD test (P= 0.05).

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

روی بود. به نحوی که اثر متقابل غلظت و نانو ذره در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار گردید. به عبارت دیگر درصد لاروهای غیر فعال غلظت‌های ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (۲۸/۷۵ درصد) و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۳۹/۵ درصد) نانو ذره‌ی نقره به ترتیب با غلظت‌های ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (۱۸/۵ درصد) و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۲۶/۵ درصد) نانو ذره‌ی اکسید روی تفاوت معنی‌دار نشان دادند. هر چند میزان مرگ و میر ناشی از اثر دو ترکیب با افزایش زمان مواجهه لارو با آن‌ها افزایش یافت. ولی این افزایش معنی‌دار نبود.

اثر نانو ذره‌ی نقره و اکسید روی بر روی مرگ و میر لارو سن دوم نماتد سیست چغندر قند نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان مرگ و میر لارو سن دو (جدول ۳) ناشی از نانو ذرات مختلف نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن اثر اعمال تیمارهای مختلف بود. مقایسه میانگین تیمارهای انجام شده (جدول ۴) نیز بیانگر تفاوت معنی‌دار بین انواع نانو ذره و غلظت‌های مختلف آن‌ها بود. به عبارت دیگر غلظت‌های مختلف هر دو نوع نانو ذره (نقره و اکسید روی) نسبت به شاهد (غلظت صفر) باعث مرگ و میر بیشتری در لاروها شدند. با این حال میزان تاثیر نانو ذره‌ی نقره بیشتر از نانو ذره‌ی اکسید

جدول ۳ - تجزیه واریانس درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتد سیست چغندر قند تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره و اکسید روی در زمانهای مختلف بعد از تیمار.

Table 3. Analysis variance of J2 mortality of sugar beet cyst nematode treated with different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles at different times after treatment.

Source of variation (منبع تغییرات)	DF (درجه آزادی)	Mean squares (میانگین مربعات)		
		Percentage of inactive J2 in different times of exposure (درصد مرگ و میر لارو سن ۲ در زمانهای مختلف مواجهه)		
		24h	48h	72h
Nanoparticle (نانوذره)	1	322.7**	315.4**	273.4**
Concentration (غلظت)	2	605**	642.8**	842.5**
Nanoparticle × Concentration (نانوذره × غلظت)	2	114.3*	127.2**	92.4**
Error (خطا)	18	8.1	3.5	6
CV (ضریب تغییرات)		11	6.7	7.3

ns: nonsignificant; *, **: significant in 0.05 and 0.01 probability, respectively.

n.s: غیر معنی‌دار؛ *, **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪.

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتد سیست چغندر قند در غلظت‌های مختلف نانو ذره‌ی نقره و اکسید روی در زمان‌های مختلف بعد از تیمار.

Table 4 Means comparison of mortality percentage of sugar beet cyst nematode in different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles at different times after treatment.

Nanoparticle (نانوذره)	Concentration (mg/l) (غلظت)	Percentage of J2 mortality in different times of exposure (درصد مرگ و میر لارو سن ۲ در زمان‌های مختلف مواجهه)		
		24 (h)	48 (h)	72 (h)
Silver (نقره)	0	15 ^e	18 ^e	21.8 ^e
	10	28.5 ^b	34 ^b	40.8 ^b
	100	39.5 ^a	43.5 ^a	48.3 ^a
Zinc Oxide (اکسید روی)	0	15 ^e	18 ^e	21.8 ^e
	10	18.5 ^d	24 ^d	32.3 ^d
	100	26.5 ^c	30 ^c	35.8 ^c

Means within a column followed by the same letters are not significantly different using LSD test ($P=0.05$).

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

شاخص‌های رشدی گیاه

تجزیه واریانس شاخص‌های مختلف رشدی چغندر قندهای سالم و آلوده به نماتد سیستی (جدول ۵) نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار بودن کاربرد نانوذرات نقره و اکسید روی و غلظت‌های مختلف نانوی آنها بر شاخص‌های مذکور بود. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی (جدول ۶، شکل ۱) نیز مؤید وجود تفاوت معنی‌دار بین اکثر شاخص‌ها در تیمارهای مختلف بود، به عبارت دیگر آلودگی به نماتد باعث کاهش معنی‌دار تمام شاخص‌های رشدی نسبت به گیاهان شاهد (غیرآلوده و بدون نانو ذرات) گردید. کاربرد غلظت‌های مختلف هر دو نانو ذره روی گیاهان سالم (بدون نماتد) اثر معنی‌داری نیز در کاهش وزن تر و خشک ساقه و ریشه نسبت به شاهد (بدون نانوذره) نشان داد. کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات، باعث افزایش معنی‌داری در میانگین طول گیاهان تمام تیمارهای آلوده به نماتد، نسبت به گیاهان آلوده به نماتد بدون استفاده از نانوذرات گردید. به عبارت دیگر غلظت‌های مختلف نانو ذرات با ممانعت از فعالیت نماتد، از کاهش طول گیاهان در تیمارهای مذکور جلوگیری کردند. نتایج مشابهی در مورد وزن تر و خشک اندام‌های هوایی مشاهده گردید. با این تفاوت که غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات (بدون نماتد) باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های مذکور نسبت به شاهد (گیاهان سالم

در این حالت نیز میزان افزایش اثر نانو ذره‌ی نقره بیشتر از نانو ذره‌ی اکسید روی بود. پس از گذشت ۴۸ ساعت بیشترین میزان کنترل مربوط به نانو ذره‌ی نقره با میزان غیرفعال شدن ۴۳/۵ درصد لاروهای سن دو بود. در همین غلظت میزان غیرفعال شدن لاروها توسط نانو ذره‌ی اکسید روی حدود ۳۰ درصد بود. کمترین میزان غیرفعال‌کنندگی نیز مربوط به غلظت صفر (شاهد) و پس از آن مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اکسیدروی (۲۴ درصد) بود. در نهایت پس از گذشت ۷۲ ساعت حدود ۴۸/۵ درصد لاروهای سن دو در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره-ی نقره‌ی غیرفعال گردیدند. در این غلظت میزان غیر فعال شدن لاروها در نانو ذره‌ی اکسید روی ۳۵/۷۵ درصد بود. با مطالعه‌ی اثر نانوذرات مختلف روی تعدادی از نماتدهای بیمارگر حشرات، نشان داده است که مرگ و میر لاروهای نماتد به غلظت نانوذرات و مدت زمان مواجهه با نماتد بستگی دارد (Kucharska et al. 2011). همچنین گزارش شده است که ترکیبات روی در شرایط آزمایشگاهی دارای فعالیت نماتدکشی علیه نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* هستند (Saravanan et al. 2006).

بررسی‌های گلخانه‌ای

نتایج ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی و نقره بر بیماری‌زایی و خسارت نماتد سیست چغندر قند در شرایط گلخانه‌ای به شرح زیر بود:

اصلی باشد. بیشترین وزن تر ریشه مربوط به تیمار سالم (بدون نماتد و نانوذرات) بود. وزن خشک ریشه نیز تقریباً نتایج مشابهی نشان داد و در تیمارهای آلوده به نماتد بدون نانو ذرات و شاهد، کمترین مقدار بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان دادند. با این حال وزن خشک ریشه در تیمارهای آلوده به نماتد و استفاده ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات، با شاهد بدون نانوذرات تفاوت معنی‌داری نشان دادند. به عبارت دیگر نانو ذرات با کنترل نماتد و ممانعت از خسارت به ریشه از کاهش وزن خشک آن جلوگیری کردند.

بدون نانو ذرات) گردیدند. افزایش غلظت نانو ذرات باعث کاهش بیشتری در شاخص‌های رشدی ساقه شد. بیشترین وزن تر و خشک ساقه مربوط به تیمار شاهد (گیاهان سالم و بدون نانوذره) و کمترین وزن تر و خشک مربوط به گیاهان آلوده به نماتد بدون استفاده از نانو ذرات بود. بررسی شاخص‌های رشدی ریشه نشان دهنده‌ی نتایج تقریباً مشابهی در مورد طول ریشه بود ولی در مورد وزن تر ریشه تا حدودی متفاوت بود. به این ترتیب که کمترین وزن تر ریشه در تیمار آلوده به نماتد (غلظت صفر نانو ذرات) مشاهده گردید که این موضوع می‌تواند به علت فعالیت نماتد و تشکیل ریشه‌های فرعی فراوان روی ریشه

جدول ۵- تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی چغندر قندهای سالم و آلوده به نماتد سیست تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی و نقره.

Table 5. Analysis variance of growth indices of infected and non-infected sugar beets due to application of the different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles.

Source of variation (منبع تغییرات)	DF (درجه آزادی)	Mean squares (میانگین مربعات)					
		Root(ریشه)			Stem (ساقه)		
		Dry weight (وزن خشک)(g)	Fresh weight (g) (وزن تر)	Length (طول)(cm)	Dry weight (وزن خشک)(g)	Fresh weight (وزن تر)(g)	Length (طول)(cm)
Concentration(غلظت)	2						
Nanoparticle(نانوذره)	1	3.1*	1.1 ^{ns}	5.1 ^{ns}	5.7*	328.1 ^{ns}	128.9**
Nematode(نماتد)	1	4.1*	3.2 ^{ns}	3 ^{ns}	1.4 ^{ns}	34.7 ^{ns}	6.7 ^{ns}
Concentration × Nanoparticle (غلظت×نانوذره)	2	43.2**	78.1*	27**	61.1**	2416.1**	282.1**
Concentration× Nematode(غلظت×نماتد)	2	4.2 ^{ns}	6.1*	0.75 ^{ns}	7.5*	949*	19.1 ^{ns}
Nanoparticle× Nematode (نانوذره × نماتد)	1	30.3**	58.5*	5.1 ^{ns}	21.4**	4974.6**	28.1 ^{ns}
Concentration × Nanoparticle× Nematode (غلظت×نانوذره×نماتد)	2	0.16 ^{ns}	0.92 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.04 ^{ns}	125.5 ^{ns}	21.4 ^{ns}
Error(خطا)	36	2.9*	3.5 ^{ns}	0.14 ^{ns}	13.3*	177.2 ^{ns}	23.1 ^{ns}
Total(کل)	47	0.55	0.83	1.5	1.2	118.2	8.8
CV(ضریب تغییرات)		12.6	6.5	16.1	12.7	15.3	9.6

n.s: nonsignificant; *, **: significant in 0.05 and 0.01 probability, respectively.

11.8: غیر معنی‌دار؛ **, *: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪

عملکرد کمی چغندر قند و جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی می‌باشد. صالحی و تمسکنی (۱۳۸۷) نشان دادند که تیمار نانو ذرات نقره (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش درصد جوانه زنی، طول ساقه چه و ریشه چه و در نهایت بهبود استقرار گندم می‌گردد.

بررسی اثرات سمیت فلزات سنگین روی و کادمیوم بر لوبیا در محلول غذایی نشان داده است که با افزایش مقدار روی و کادمیوم مقدار این عناصر در برگ‌ها افزایش یافته و طول ساقه کاهش می‌یابد (Van Assche et al., 1988). در بررسی جذب و تجمع نانو ذرات اکسید روی توسط دانه‌های سویا مشاهده شده است که عنصر روی جذب شده توسط جوانه‌ها در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر

به طور کلی نتایج حاصل از این آزمایش مؤید تاثیر مستقیم نانو ذرات روی نماد بود. هرچند اثر محدودی نیز روی کاهش رشد گیاه نشان داد. بررسی اثر گیاه سوزی نانو ذرات با استفاده از نانو ذره نقره جهت کنترل نمادهای ریشه نشان داده است که نانو ذره مذکور گیاه سوزی قابل توجهی در گیاهچه‌ها ایجاد نمی‌کند (Yong et al., 2013). جذب نانو مواد کربنی و فلزی توسط گیاهان زمینه‌ی تحقیقاتی جدیدی می‌باشد. جذب، جابجایی و تجمع نانو ذرات بسته به گونه‌های گیاهی و نوع، اندازه، ترکیب شیمیایی، ساختمان و استحکام نانو ذرات متفاوت می‌باشد. نتایج آزمایش‌های فیضی و همکاران (۱۳۸۹) موید کاربرد نانو ذرات نقره به عنوان یک رهیافت نوین در افزایش

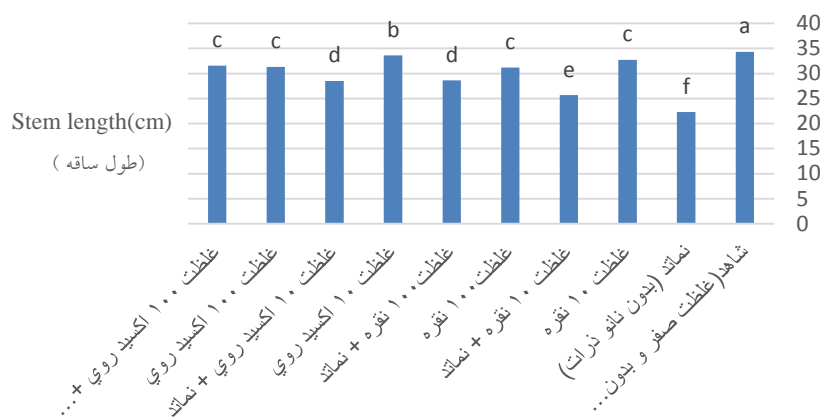
جدول ۶- مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی چغندر قند های سالم و آلوده به نماد سیست تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی و نقره

Table 6. Means comparison of growth indices of infected and non-infected sugar beets due to application of the different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles, N= Nematode, S= Silver, ZO= Zinc Oxide.

Treatment(تیمار)	Stem(ساقه)			Root(ریشه)		
	Length (طول) (cm)	Fresh weight (وزن تازه) (g)	Dry weight (وزن خشک) (g)	Length (طول) (cm)	Fresh weight (وزن تازه) (g)	Dry weight (وزن خشک) (g)
Control (شاهد)	34.3 ^a	100.6 ^a	10 ^a	8 ^b	19.4 ^a	9.5 ^a
N (نماتد)	22.3 ^f	44 ^b	6.5 ^e	5.4 ^e	12 ^f	4 ^e
S (نقره) 10 mg/l	32.7 ^c	74 ^b	9.4 ^b	8 ^b	14.7 ^e	4.3 ^e
N (نماتد) + S (نقره) 10 mg/l	25.7 ^e	58 ^f	6.7 ^e	6.4 ^d	14.3 ^e	5.4 ^d
S (نقره) 100 mg/l	31.2 ^c	52.4 ^g	8.4 ^c	7.5 ^c	17.3 ^b	7.3 ^b
N (نماتد) + S (نقره) 100mg/l	28.6 ^d	66 ^d	7.5 ^d	7 ^c	14.1 ^e	4 ^e
ZO (اکسید روی) 10 mg/l	33.6 ^b	74.3 ^b	9.5 ^b	9 ^a	15.3 ^d	7.2 ^b
N (نماتد) + ZO (اکسید روی) 10 mg/l	28.5 ^d	52 ^g	6.5 ^e	7 ^c	14.3 ^e	6.1 ^c
100 mg/ ZO	31.3 ^c	67.4 ^e	8.3 ^c	7.6 ^c	17.6 ^b	7.5 ^b
N (نماتد) + ZO (اکسید روی) 100mg/l	31.6 ^c	69 ^c	8.7 ^c	7.5 ^c	16.6 ^c	6.5 ^c

Means within a column followed by the same letters are not significantly different using LSD test (P= 0.05)

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل ۱- مقایسه میانگین طول اندام هوایی چغندر قندهای سالم و آلوده به نماتد سیست تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی و نقره.

Fig.1: Means comparison of foliage length of infected and non-infected sugar beets due to application of the different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles.

بحث قرار گرفته است ولی مکانیسم دقیق عمل مشخص نشده است (Kumar et al., 2009).

شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد

تجزیه واریانس شاخص‌های رشد و نمو نماتد (تعداد سیست روی ریشه، تعداد تخم‌های موجود در هر سیست و تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک) تحت تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره و اکسید روی (جدول ۷) بیانگر معنی‌دار بودن اثر کاربرد نانوذرات بود. مقایسه میانگین شاخص‌های مذکور (جدول ۸) نیز نشان داد که کاربرد غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از هر دو نانو ذره مؤثرترین تیمار در کاهش شاخص‌های رشد و نمو نماتد سیست چغندر قند بود و غلظت‌های ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از نظر میزان اثرگذاری در رتبه‌ی بعدی قرار گرفتند. میزان اثرگذاری نانوذره‌ی نقره در اکثر شاخص‌های رشد و نمو نماتد بیشتر از نانوذره‌ی اکسید روی بود و بیشترین تعداد سیست در ریشه، تخم درون سیست و لارو در ۱۰۰ گرم خاک در تیمار نماتد بدون استفاده از نانوذرات مشاهده شد که نشان دهنده‌ی اثر کنترلی هر دو

بیشتر از غلظت‌های دیگر بوده و در غلظت‌های بالاتر، تجمع نانو ذرات باعث کاهش جذب و تجمع می‌شود (Lopez et al., 2010). احتمالاً نانو ذرات قادر به افزایش نفوذ پذیری دیواره‌ی سلول گیاهی بوده و با ایجاد منافذ در دیواره به سلول‌ها نفوذ می‌کنند. بعد از ورود به سلول، نانو ذرات ممکن است از بین سلول‌ها از طریق پلاسمود سماتا انتقال یابند و به سلول‌های ساقه برسند و سبب کاهش رشد ساقه گردند. کاهش رشد را می‌توان به اثر اتیلن نسبت داد. اتیلن یکی از هورمون‌های مهم گیاهی است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلفی همچون جوانه‌زنی بذر، توسعه‌ی ریشه‌های موئین، ریزش برگ و گل و رسیدن میوه نقش دارد. اتیلن در بسیاری از فرآیندها در گیاه عکس جیبرالین (هورمون رشد) عمل می‌کند. اولین بار نقش ممانعت‌کنندگی نقره از اتیلن را با مطالعه‌ی کاربرد غلظت‌های مختلف نیترات نقره روی گیاهچه‌های نخود و افزایش رشد آنها در مقایسه با شاهد نشان داده شد (Beyer, 1976). جنبه‌های بنیادی و کاربردی مدل رشد گیاه تحت تأثیر نیترات نقره نیز توسط محققین، مورد

نقره اثر بازدارنده‌ای بر رشد قارچ‌های مذکور داشته و با افزایش غلظت، میزان بازدارندگی افزایش می‌یابد به نحوی که بیشترین کنترل در بالاترین غلظت (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مورد استفاده در مطالعه‌ی آنها مشاهده شده بود (Kim et al., 2012).

نانوذره روی نماتد و حساس بودن چغندر قند به نماتد بود. با افزایش غلظت‌های نانو ذرات، پارامترهای رشد و نمو نیز کاهش نشان دادند. مطالعه روی عوامل بیماری‌زای دیگر نیز حاکی از موثر بودن بعضی از نانوذرات فلزی روی عوامل مذکور بوده است، برای مثال با تحقیق روی ۱۸ قارچ بیماری‌زای گیاهی نشان داده شده است که نانو ذرات

جدول ۷ - تجزیه واریانس شاخص‌های رشد و نمو نماتد سیست چغندر قند تحت تاثیر کاربرد غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره و اکسید

روی.

Table 7. Analysis variance of sugar beet cyst nematode developmental parameters due to application of the different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles.

Source of variation (منبع تغییرات)	DF (درجه آزادی)	Mean squares (میانگین مربعات)			
		J2/100g soil	Cyst/100g soil	Cyst / root	Egg/cyst
Treatment (تیمار)	5	44.36**	41.47*	352.47**	406.7*
Error (خطا)	18	2.41	4.4	19	47.91
Total (کل)	23				
CV (ضریب تغییرات)		14.24	13.21	10.09	6.4

n.s: nonsignificant; *, **: significant in 0.05 and 0.01 probability, respectively.

NS: غیر معنی‌دار؛ **، * به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪

جدول ۸ - مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نمو نماتد سیست چغندر قند تحت تاثیر کاربرد غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره و اکسید

روی.

Table 8. Mean comparison of the beet cyst nematode developmental parameters due to application of the different concentrations of silver and zinc oxide nanoparticles, N= Nematode, S= Silver, ZO= Zinc Oxide.

Treatment (تیمار)	J2 (لارو سن ۲) / 100g soil (خاک)	Cyst (سیست) / 100g soil (خاک)	Cyst (سیست) / root (ریشه)	Egg (تخم) / cyst (سیست)
N ()	15 ^a	19.5 ^a	55.25 ^a	124.5 ^a
N (نماتد) + S (نقره) 10 mg/l	9.5 ^c	14.5 ^c	41.25 ^b	107 ^b
N (نماتد) + S (نقره) 100 mg/l	7.25 ^e	11.5 ^d	32 ^e	94.75 ^d
N (نماتد) + ZO (اکسید روی) 10 mg/l	10.5 ^b	15.75 ^b	40 ^c	107.5 ^b
N (نماتد) + ZO (اکسید روی) 100 mg/l	8 ^d	14.25 ^c	38.75 ^d	101.75 ^c

Means within a column followed by the same letters are not significantly different using LSD test (P= 0.05).

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

نماتد سیست چغندر قند بود. نانو ذره‌ی نقره بر مرگ و میر لارو و تخم نماتد اثر بیشتری نشان داد. نتایج حاصل از بررسی تاثیر نانو ذرات بر بیماری‌زایی نماتد سیست چغندر قند در شرایط گلخانه مؤید تاثیر نانو ذرات در

نتیجه‌گیری نهایی

آزمون‌های آزمایشگاهی اثر نانو ذرات نقره و اکسید روی بر لارو و تخم، نشان دهنده‌ی اثر آن‌ها روی تسریع مرگ و میر لارو سن دوم و بازداري از تفریح تخم

نقره باعث کاهش شاخص‌های رشدی گیاه گردید. با توجه به نتایج این بررسی، به نظر می‌رسد هر چند نانو ذرات نقره و اکسید روی بر مرگ و میر لارو، و ممانعت از تخم نماتد اثر دارند ولی استفاده از آن‌ها در برنامه کنترلی مستلزم تحقیقات بیشتر جهت حذف اثرات سوء آنها می‌باشد. علاوه بر این، توصیه قطعی آنها به نتایج حاصل از بررسی کارآیی کنترلی آنها در شرایط مزرعه بستگی دارد.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد که امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند، تشکر می‌نمایند.

کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتد سیست چغندر به گیاهان مورد آزمایش بود. براساس نتایج بدست آمده نانو ذره‌ی نقره با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در حالت مخلوط با خاک اثر بیشتری در کاهش نماتد نسبت به تیمارهای دیگر داشت. با توجه به نتایج حاصل از بررسی آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، احتمالاً بخش عمده‌ی کنترل نماتد سیست چغندر قند، به روش استفاده مخلوط با خاک در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، ناشی از اثر سمیت مستقیم نانو ذرات روی مراحل مختلف زندگی نماتد بوده است. القای مقاومت ناشی از نانو ذرات در گیاه نیز احتمالاً بر اثر کنترلی نانوذرات می‌افزاید. از طرفی با آنکه نانو ذره اکسید روی تا حدودی باعث افزایش رشد گیاهان آزمایشی شد ولی سمیت ناشی از کاربرد غلظت‌های بالای نانوذره‌ی

منابع

- دامادزاده م و احمدی ع، ۱۳۸۵. تأثیر گردش زراعی در کاهش جمعیت نماتد سیست چغندر قند در اصفهان. مجله آفات و بیماری‌های گیاهی، جلد ۷۴، شماره ۱. صفحات ۱ تا ۱۵.
- فیضی ح، رضوانی مقدم پ و برهمند ع، ۱۳۸۹. بررسی عملکرد و صفات کیفی ریشع چغندر قند تحت تأثیر میدان مغناطیسی و کاربرد نانوذره نقره. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۹، شماره ۱. صفحات ۸۸ تا ۹۴.
- مه‌دیخانی مقدم ع و جعفرپور ب، ۱۳۷۵. شناسایی و تعیین پراکنندگی گونه‌های *Heterodera* در مزارع چغندر قند منطقه مشهد. مجله علوم و صنایع غذایی، جلد ۲۲، شماره ۱. صفحات ۲ تا ۱۶.
- مه‌دیخانی مقدم ع، روحانی ح و فلاحی رستگار م، ۱۳۸۸. کنترل بیولوژیکی نماتود سیستی چغندر قند *Heterodera schachtii* به وسیله قارچ تریکودرما در آزمایشگاه و گلخانه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۱۳، شماره ۴۸. صفحات ۳۰۱ تا ۳۱۲.
- صالحی م و تمسکنی ف، ۱۳۸۷. تأثیر نانونقره در تیمار بذری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم تحت تنش شوری. خلاصه مقالات اولین همایش علوم و تکنولوژی بذر در ایران، دانشگاه علوم کشاورزی گرگان، گرگان. صفحه ۳۵۸.
- Beyer EM, 1976. A potent inhibitor of ethylene action in plants. *Plant Physiology*, 58 (3): 268-271.
- Bhattacharyya A, Bhaumik A, Rani PU, Mandal S and Epiidi TT, 2010. Nano-particles, a recent approach pest control. *African Journal of Biotechnology*, 9 (24): 3489-3493.
- Chow J C, 2005. Nanoparticles and environment. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 55: 706-707.
- Cromwell W. A. Joopil Y, Starr J L, and Young K, 2014. Nematicidal effects of Silver nanoparticles on root-knot nematode in Bermudagrass. *Journal of Nematology*, 46(3):261-266.

- Dibrov P, Dzioba J, Gosink K K and Hase C C, 2002. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag⁺ in *Vibrio cholerae*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 46: 2668–2670.
- Grunlder F M W, Sobczak M and Iange S, 1997. Defense responses of *Arabidopsis thaliana* during invasion and feeding site induction by the plant parasitic nematode *Heterodera glycines*. *Physiological Molecular Plant Pathology*, 50: 419-429.
- Fenwick K N, 1940. Method for recovery and counting of cyst of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*, 18: 155-177.
- Heydari R, Pourjam E and Mohammadi Goltapeh E, 2006. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in vitro. *Plant Pathology*, 5 (2): 173-177.
- Kim SW, Jung J H, Lamsal K, Kim Y S, Min J S and Lee Y S, 2012. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40 (1): 53-58.
- Kucharska K, Tumialis D, Pezowicz E and Skrzecz I, 2011. The effect of gold nanoparticles on the mortality and pathogenicity of entomopathogenic nematodes from Owinema biopreparation. *Insect Pathogens and Entomopathogenic Nematodes*, 66 (1): 347-349.
- Kumar V, Parvatam G and Ravishankar G A, 2009. AgNO₃-a potential regulator of ethylene activity and plant growth modulator. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12 (2): 1-15,
- Lopez-Moreno M L, Rosa G, Hernandez-Viezcas J A, Castillo-Michel H, Botez C E, Peralta-Videa J R and Gardea-Torresdey J L, 2010. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environmental Science and Technology*, 44 (19): 7315–7320.
- Lubick N, 2008. Nanosilver toxicity: ions, nanoparticles or both? *Environmental Science and Technology*, 42 (23): 8617–8617
- Minton N A, Parker M B and Sumner D R 1985. Nematode control to Fusarium wilt in soybean and root rot and zinc deficiency in corn. *Journal of Nematology*, 17 (3): 314-32.
- Ruffini Castiglione M, Giorgetti L, Geri C and Cremonini R, 2010. The effects of nano TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L. *Journal of Nanoparticle Research*, 6: 2443-2449.
- Saravanan V S, Kalaiarasan P, Madhaiyan M and Thangaraju M, 2006. Solubilization of insoluble zinc compounds by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and the detrimental action of zinc ion (Zn²⁺) and zinc chelates on root knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Letters in Applied Microbiology*, 44 (3): 235-241.
- Scharf A, Piechulek A and Mikecz AV, 2013. Effect of nanoparticles on the biochemical and behavioral aging phenotype of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *ACS Nano*, 7 (12): 1695-1703.
- Van Assche F, Cardinaels C and Clijsters H, 1988. Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: dose-response relations in *Phaseolus vulgaris* L., treated with zinc and cadmium. *Environmental Pollution*, 52: 103–115.
- Whitney E D and Duffus J E, 1986. Compendium of Beet Diseases and Insects. American Phytopathological Society, Minnesota, 76 Pp.
- Yong K j, Starr J L and Deng Y, 2013. Use of silver nanoparticul for nematode control on the Bermudagrass putting green. *Turfgrass and Environmental Research Online*, 12(2): 22-23.

Effect of Silver and Zinc Oxide Nanoparticles on Sugar Beet Cyst Nematode (*Heterodera schachtii*)

A A Fadaei Tehrani^{1*} and Z Fathi²

¹Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Sharekord.

²MSc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Sharekord.

*Corresponding Author: fadaei@yahoo.com

Received: 6 January 2020

Accepted: 28 April 2019

Abstract

The cyst nematode is one of the major pathogens of sugar beet, which, many studies has been done for its effective control. The most of existing control methods of cyst nematode are troublesome. Recently, the use of nanoparticles in various aspects of human life, the application of nanotechnology in agriculture and especially in the plant protection has also been considered. However, a detailed study on the effect of zinc and silver nanoparticles on cyst nematode has not been done. In order to examine the possibility of nematode control, the effect of zinc and silver nanoparticles on different life stages of sugar beet cyst nematode (*H. schachtii*) in vitro and the effect of the nanoparticles on the nematode pathogenicity and damages were assessed under greenhouse conditions. The results of laboratory tests showed increased mortality of larvae, and reduced egg hatching, due to the use of silver and zinc oxide nanoparticles. Mean comparisons of nanoparticles were revealed the more effective of nano silver on the inhibition of the hatching egg and larvae mortality. Results of the effect of nanoparticles on nematode pathogenicity under greenhouse conditions revealed that the nanoparticles reduce the cyst nematode damages. The results showed that silver Nano Silver at a concentration of 100 mg/l mixed with soil were more effective than other treatments. According to the results, probably the toxicity of nanoparticles had been more effective to control of cyst nematode in 100 mg/l nanoparticles in soil mixed method.

Keywords: Cyst nematode, Nanoparticles, Silver, Zinc oxide.